Aus dem Physioloigschen Institut der Universität Heidelberg.
(Direktor: Prof. Dr. J. D. Achelis.)

Über die Einwirkung verschiedener Aminosäuren auf den Verlauf der Kontraktionen des ausgeschnittenen Froschsatorius.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruprecht-Karl-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Willy Gokel

aus Dielheim.

[illegible] BIOLOGICAL LIBRARY

1940

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg.

Dekan: Prof. Dr. Rodenwald.

Referent: Prof. Dr. Achelis.

Einleitung.

Zahlreiche Untersuchungen des Physiologischen Instituts zeigten die Zusammenhänge zwischen dem Eiweißgehalt der Nahrung und der motorischen Spontanaktivität von Mäusen und neuerdings von Ratten und Meerschweinchen (1—12). Den Wirkungsmechanismus der gesehenen Aktivitätssteigerungen und -herabsetzungen kennen wir nicht. Sicher handelt es sich jedoch um Änderungen des motorischen Antriebs, nicht um am Muskel direkt angreifende Änderungen der Bewegungsmöglichkeit. In nicht näher bekannter Weise dürften zentralnervöse Stellen durch die mehr oder weniger große Eiweißzufuhr — evtl. erst indirekt — in ihrer normalen Arbeitsweise verändert werden. Man wird dabei hauptsächlich an das Zwischenhirn denken.

Zu Beginn der oben angeführten Untersuchungen über die Zusammenhänge zwischen Eiweißzufuhr und dem Antrieb zu motorischer Leistung war die Frage entstanden, ob verschiedene Eiweißzufuhr den Muskel selbst und seine Leistungsfähigkeit verändere. Es könnten, etwa parallel der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes, bei vermehrter Eiweißzufuhr diejenigen Organe, die diese spezifisch-dynamische Wirkung zeigten, eine verbesserte Leistungsfähigkeit aufweisen. Es erhielte dann die spezifisch-dynamische Wirkung insofern einen Sinn, daß sie nicht mehr als eine einfache Energieverpuffung ohne erkennbaren Nutzen für den Organismus aufzufassen wäre. Vielmehr würde der vermehrte Energieverbrauch eben für die Erhöhung der Arbeitsfähigkeit dienen. Diese Leistungsvermehrung bräuchte sich nicht unbedingt in vermehrter maximaler Kraftentwicklung zu äußern, vielmehr könnte die Kontraktion früher einsetzen oder rascher ablaufen. Es war also zu prüfen, ob parallel mit der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes irgend eine Veränderung der Leistungsfähigkeit erfolgt.

Als einfachstes Modell wurden die Zuckungen eines isolierten Froschsatorius in einer Badflüssigkeit mit Zusatz verschiedener Aminosäuren in wechselnder Konzentration untersucht. Nekrassow und Nekrassowa (13) hatten bei derartigen Untersuchun-

gen am ausgeschnittenen Froschmuskel eine Leistungsverbesserung durch Zusatz der Serumeiweißkörper zu der Badflüssigkeit gesehen. Allerdings handelt es sich dabei um die Wirkung auf vorher ermüdete Muskeln. Die Leistungsfähigkeit wurde durch einfache Registrierung der Zuckungshöhe und ihre Abnahme bei häufig wiederholter Reizung erfaßt.

Wir versuchen nun festzustellen, inwieweit einzelne Aminosäuren in der Badflüssigkeit die Leistungsfähigkeit eines Froschmuskels beeinflussen, und zwar ohne vorherige Ermüdung oder sonstige Schädigung des Muskels. Bekanntlich wird zwar der ermüdete oder erstickte Muskel durch Zusatz bestimmter Aminosäuren und sehr vieler sonstiger Substanzen in seiner Leistungsfähigkeit gehoben. Der intakte Muskel zeigt bei einfacher Berücksichtigung der Zuckungshöhe keine Beeinflussung durch Zugabe verschiedener Aminosäuren. Wir versuchten nun eine Änderung der Leistungsfähigkeit des intakten Froschmuskels dadurch zu finden, daß wir über die Feststellung der Zuckungshöhe hinaus den Verlauf der Kontraktion registrierten.

Methodik.

Als Versuchsorgan wurde der überlebende, möglichst schonend herauspräparierte Satorius mittelgroßer Frösche gewählt. Dieser Muskel ist dünn genug, daß ein intensiver gegenseitiger Austausch zwischen Muskelzellen und Badflüssigkeit erwartet werden kann. Zur Befestigung des zarten Muskels dienten herausgeschnittene Stückchen der beidseitigen Knochenansätze. Der Muskel wurde in einer künstlichen Nährlösung ausgespannt und seine Bewegungen auf einen Schreibhebel übertragen. Die Belastung des Schreibhebels war ein für allemal die gleiche. Die schematische Abbildung 1 zeigt in einfacher Weise die Anordnung, die zur Registrierung der Muskelkontraktion benutzt wurde.

Zur Erregung wurde direkte Reizung mit dem Strom eines Induktoriums verwandt. Die Stromstärke wurde jeweils so gemessen, daß sie gerade übermaximal war. Nach der Tötung des Tieres erfolgte sofort die Entnahme des Muskels. Nach Feststellung der Reizstärke für gerade maximale Kontraktion blieb der Muskel mindestens eine

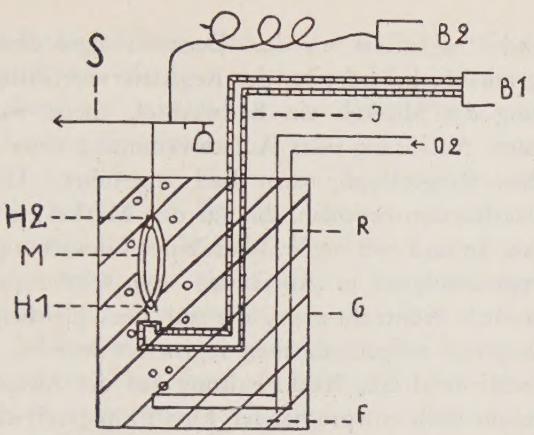

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Anordnung zur Registrierung der Muskelzuckungen in verschiedener Badflüssigkeit.

I. = isolierter Metallstab, in die Badflüssigkeit ragend. (Isolierung schraffiert). Der Muskel wurde an dem daran befindlichen freien nicht isolierten Haken H. 1 befestigt. H 2 = Metallhaken zur Befestigung des Muskels M. am Schreibhebel S. B. 1 und B. 2 = Bananenstecker zur Zufuhr des Reizstromes. Der Glastrog G. enthält die Badflüssigkeit F. Durch das R. wurde die Badflüssigkeit dauernd mit Sauerstoff durchspült. Der Glastrog konnte nach unten gesenkt werden und damit ohne irgendwelche Spannungsveränderungen am Muskel die Flüssigkeit erneuert oder mit Zusätzen versehen werden.

Stunde im Bade (Ringerlösung ohne Bikarbonat mit Phosphatpuffer, pH = 7,15) zur Alterung liegen. Bei sofortigem Versuchsbeginn nach der Präparation waren die Kontraktionsabläufe unter stets gleichen Verhältnissen sehr viel weniger konstant als nach dieser Alterung. Während der ganzen Versuchszeit wurde die Badflüssigkeit mit Sauerstoff durchströmt. Die Kontraktionen wurden auf einem Schleuderkymographion mit automatischer stets gleichzeitiger und gleich langer Reizzeit untereinander registriert. Die Kontraktionen folgten sich in Abständen von 3 Minuten, sodaß jegliche Ermüdung ausgeschaltet war. Es wurde so verfahren, daß zunächst mit der einfachen gepufferten Ringerlösung als Bad etwa fünf Einzelzuckungen genau

untereinander registriert wurden. Dann erfolgte ohne irgendwelche Änderung am Muskel oder an der Registriervorrichtung oder an der Aufhängung des Muskels ein Badwechsel, meist wurde dazu eine konzentrierte Auflösung oder Aufschwemmung einer Aminosäure in der gleichen Ringerlösung dem Bad zugeführt. Die untersuchten Aminosäure-Konzentrationen, die auf den Muskel einwirkten, waren 1, 5, 10, 20, 50 und 100 mg%. Nach einer Einwirkungszeit von etwa 15 Minuten erfolgten in Abständen von wiederum drei Minuten etwa 5 weitere Kontraktionen, die auf dem gleichen Papier genau unter den zuerst aufgenommenen registriert wurden. Zur Kontrolle diente anschließend eine Rückschaltung auf die Ausgangslösung, mit der wiederum nach entsprechender Einwirkungszeit die gleiche Kurvenzahl aufgenommen wurde. Mit ein und demselben Muskel wurde häufig die Einwirkung verschiedener Aminosäure-Konzentrationen ausprobiert. Bei den meisten Präparaten waren hintereinander völlig gleiche Zuckungskurven zu erhalten. Die Latenzzeit war von Kon-

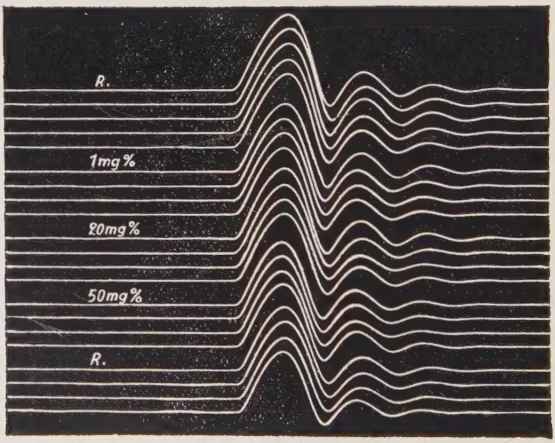

Abbildung 2: Bild einer Originalkurve (etwa ⅓ natürlicher Größe). Beschreibung im Text.

traktion zu Kontraktion gleich. Die Kontraktionsgeschwindigkeit (Steilheit der Kurve auf dem Papier) war ebenfalls erstaunlich gleichmäßig. Ebenso der Abstand der höchsten Erhebung von der

Ausgangsbasis (Zuckungshöhe). Auch die Erschlaffung war bei den meisten Kontraktionen meistens gleichartig. Bei einfacher Beobachtung mit dem Auge fiel innerhalb einer solchen Schar von Einzelkurven untereinander die geringste Abweichung einer Kurve gegen die anderen sehr in die Augen. Auch ohne Änderung der Badflüssigkeit fanden sich gelegentlich einzelne Kurven, die gegenüber den anderen aus der Reihe fielen. Die Gleichmäßigkeit des Kontraktionsablaufes war zwar groß, aber nicht absolut. Zur zahlenmäßigen Erfassung des Kurvenverlaufes wurden von den Kurven jedes einzelnen Versuches durch Anlegen durchsichtigen Millimeterpapieres die Zuckungshöhe und die Zuckungsdauer abgelesen. Bei der stets gleichen Kymographiongeschwindigkeit ergibt die einfache Ablesung des Abstandes vom Beginn bis Ende der Zuckung auf der Kurve eine einfache Vergleichsmöglichkeit für die Zuckungsdauer. Eine besondere Zeitmarkierung wurde nicht verwendet.

Ergebnisse.

In Abbildung 2 geben wir als Beispiel das Bild einer Originalkurve und erläutern daran den Untersuchungsgang. Die einzelnen Kurvenscharen, die mit verschiedener Badflüssigkeit gewonnen wurden, sind durch größeren Abstand voneinander getrennt. Die Beschriftung gibt die Zusätze von in diesem Falle Tyrosin an. R bedeutet einfache Ringerlösung als Badflüssigkeit ohne Aminosäurezusatz. Die obersten und untersten Kurven mit Badflüssigkeit ohne Aminosäurezusatz sind also die Normalkurven. Schwankungen, wie sie innerhalb dieser Kurvenscharen vorkommen, sind also nicht bedingt durch Änderungen der Badflüssigkeit. Die Ausmessung dieser beiden Normalkurvenscharen ergibt folgende Werte:

Zuckungshöhe in cm	Für die Zuckungsdauer: cm
3,75	2,9
3,85	2,9
3,75	2,9
3,80	2,8
3,70	2,8
Mittelwert 3,77 ± 0,05	Mittelwert 2,86 ± 0,05

3,60	2,45
3,65	2,5
3,60	2,38
3,50	2,38
Mittelwert 3,58 ± 0,06	Mittelwert 2,43 ± 0,06

Innerhalb einer Kurvenschar stimmen die Kurven sehr genau miteinander überein. Das ergibt die einfache Beobachtung eigentlich deutlicher als die Ausmessung. Die übliche Anwendung der Fehlerberechnung auf die Ausmessung z. B. der Zuckungshöhe ergibt eine mittlere Streuung der Einzelwerte von ± 0,05 für die erste Kurvenschar, für die letzte Kurvenschar, die also ungefähr 1½ Stunden später in der gleichen Badflüssigkeit gewonnen wurde, eine solche von 0,06. Das heißt von 100 Einzelwerten, die gerade 3 × 0,05 bezw. 3 × 0,06 vom angegebenen Mittelwert entfernt liegen, wären 66 durch eine besondere Wirkung veranlaßt. Jeder Einzelwert und erst recht der Durchschnitt der 2. Periode liegen demnach significant unter dem Durchschnitt der Vorperiode. Das gleiche gilt für die relativen Angaben über die Zuckungsdauer. Zwischen diesen beiden Kurvenscharen mit Normalringer liegen solche mit Tyrosinzusatz. Die Ausmessung der Kurvenschar mit 1 mg% Tyrosin (an Normalringer anschließend) ergibt folgende Werte:

Zuckungshöhe: cm	Für die Zuckungsdauer: cm
3,65	2,6
3,55	2,6
3,55	2,7
3,50	2,6
Mittelwert 3,56 ± 0,06	Mittelwert 2,62 ± 0,04
Die Werte unter 3,62 können als signifikant verschieden von denen mit Normalringer gelten.	Alle Werte unter 2,7 können als signifikant verschieden von denen mit Normalringer gelten.

Zusatz von 20 mg% Tyrosin (anschließend an 1 mg%) ergab folgende Werte:

3,60	2,75
3,70	2,60
3,70	2,60
3,65	2,60
Mittelwert 3,66 ± 0,05	Mittelwert 2,64 ± 0,07.

Während die Zuckungsdauer durch die Tyrosinzufuhr verkürzt bleibt, zeigt die Zuckungshöhe eine Rückkehr zu den Werten in Normalringer.

Zusatz von 50 mg% ergab folgende Werte:

3,35	2,4
3,40	2,4
3,45	2,4
3,45	2,4
Mittelwert 3,41 ± 0,05	Mittelwert 2,4 ± 0.

Alle Werte liegen wieder signifikant tiefer als die Ausgangswerte. Rückschaltung auf Normalringer ergab folgende Werte:

3,60	2,45
3,65	2,50
3,60	2,38
3,50	2,38
3,58 ± 0,06	2,43 ± 0,06.

Die Rückschaltung hat aber gegenüber der Zuckung in Flüssigkeit mit 50 mg% Tyrosin keinen signifikanten Unterschied ergeben.

Eine eingehende Besprechung erübrigt sich schon deshalb, weil das angeführte Beispiel dasjenige ist, das vor allem die größten Unterschiede des Zuckungsverlaufes mit und ohne Zusatz aufweist. Diese Beeinflussung des Zuckungsverlaufes, die an diesem Präparat durch Tyrosin verschiedener Dosierung erfolgte, wurde sonst in gleicher und anderer Dosierung nicht gesehen.

Auch die sonst geprüften Aminosäuren ließen eine solche Beeinflussung vermissen; das ergab sowohl die einfache Beobachtung der

Kurvenscharen als auch die Ausmessung der Kurven und die Anwendung der Fehlerberechnung auf die erhaltenen Werte. Die erhaltenen Unterschiede waren nur in einigen Fällen signifikant, ließen sich jedoch nicht wiederholen. Die Aufführung aller angestellten und ausgemessenen Versuche erübrigt sich deshalb.

Zur Untersuchung und Ausmessung kamen:

6 Präparate mit 12 Normalkurvenscharen und

1 ×	Zusatz	von	5 mg%	Glykokoll
3 ×	„	„	10 mg%	„
7 ×	„	„	20 mg%	„
3 ×	„	„	50 mg%	„

ferner 5 Präparate mit 10 Normalkurvenscharen und

2 ×	Zusatz	von	1 mg%	Arginin
5 ×	„	„	10 mg%	„
4 ×	„	„	20 mg%	„
4 ×	„	„	50 mg%	„

ferner 7 Präparate mit 14 Normalkurvenscharen und

4 ×	Zusatz	von	1 mg%	Tyrosin
2 ×	„	„	2 mg%	„
5 ×	„	„	10 mg%	„
2 ×	„	„	20 mg%	„
5 ×	„	„	50 mg%	„

ferner 5 Präparate mit 5 Normalkurvenscharen und

1 ×	Zusatz	von	1 mg%	Phenylalanin
1 ×	„	„	10 mg%	„
1 ×	„	„	20 mg%	„
2 ×	„	„	50 mg%	„

Im ganzen wurden 93 Kurvenscharen miteinander verglichen durch Beobachtung und Ausmessung. Gelegentliche signifikante Unterschiede bei der oder jener Dosierung erwiesen sich nie als konstant.

Zusammenfassung und Schluß.

Es ergibt sich, daß die untersuchten Aminosäuren auf den Kontaktionsablauf eines herausgeschnittenen Froschsatorius von der Badflüssigkeit aus keinen nennenswerten Einfluß nehmen. Vielleicht wird manchmal die sonst unveränderte Kontraktion etwas schneller. Es ist natürlich fraglich, ob die Aminosäuren überhaupt aus der Badflüssigkeit hineindiffundieren. Wir haben auch einige Versuche durchgeführt, in denen die Aminosäure den Tieren vorher in den Lymphsack oder ins Herz injiziert wurde, und haben den Satoriusmuskel vor und nach der Injektion verglichen. Auch dabei ergaben sich keine deutlichen Unterschiede.

Zu der Frage, ob die Leistungsfähigkeit eines Muskels von der zugeführten Eiweißmenge der Nahrung abhängig ist, können unsere Modellversuche also nicht beitragen. Vielleicht würden Versuche über die Muskelarbeit des weitgehend intakten, nicht herausgeschnittenen Muskels ein anderes Ergebnis zeigen. Von Ergometerversuchen an Menschen ist ja bekannt, daß eine sofortige Herabsetzung der Muskelleistung erfolgt, wenn die Eiweißzufuhr ein gewisses Minimum unterschreitet.

Versuche am herausgeschnittenen Froschsatorius zeigten eine ziemliche Konstanz des Kontraktionsablaufes, wenn der Muskel in von Sauerstoff durchströmter, gepufferter Ringerlösung aufgehängt wurde. Die Muskelkontraktion wurde in ihrem Gesamtverlauf registriert. In der Badflüssigkeit wurden verschiedene Aminosäuren in steigender Konzentration zugesetzt. Weder bezüglich der Konzentrationshöhe noch bezüglich der Kontraktionsgeschwindigkeit noch bezüglich der Erschlaffungszeit zeigen sich verwertbare Änderungen durch den Aminosäurezusatz.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Achelis, meinem hochverehrten Lehrer, für die Überlassung der Arbeit und Herrn Doz. Dr. med. habil. H. Nothurft für die Unterstützung und die Anregungen bei der Durchführung derselben.

Literaturverzeichnis

1. Achelis, J. D. und H. Nothurft: Über Ernährung und motorische Aktivität. I. Mitteilung. Pflüg. Arch. 241, 651 (1939).
2. Nothurft, H.: Über Ernährung und motorische Aktivität. II. Mitteilung. Über eine spezifisch-motorische Wirkung der Nahrung. Pflüg. Arch. 242, 700 (1940).
3. Maier-Heuser, Kurt: Über die Abhängigkeit der tierischen Motorik von der Nahrung. Diss. Hdlbg. 1938.
4. Westphal, Alice und Walter Schüring: Über den Gesamtsauerstoffverbrauch und die Kohlensäureproduktion von Mäusen im Verlaufe der Unterernährung mit gleichzeitiger Bewegungsregistrierung. Diss. Hdlbg. 1938.
5. Dietrich, Irene und Heinrich Geuder: Über den Gesamttagesumsatz von Mäusen im Verlaufe der Unterernährung mit gleichzeitiger Bewegungsregistrierung. Diss. Hdlbg. 1939.
6. Fucker, Heinz und Erwin Schneider: Über Änderungen des Gesamttagessauerstoffverbrauchs von weißen Mäusen durch verschiedene Nahrungszusammensetzungen besonders hinsichtlich des Eiweißes und über eine spezifisch-motorische Wirkung der Nahrung. Diss. Hdlbg. 1939.
7. Krings, Kornel und Walter Bräuner: Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der motorischen Aktivität von der Ernährung und besonders über eine Steigerung der Motorik weißer Mäuse bei niedrigem Eiweißgehalt der Nahrung. Diss. Hdlbg. 1940.

Siehe auch:

8. Nothurft, H. und J. Hopp: Erfahrungen bei der Benutzung des Zeiß'schen Laboratoriumsinterferometers zur Stoffwechselmessung besonders an Kleintieren. Pflüg. Arch. 242, 97. 1939.
9. Hammel, Kurt: Über eine sehr empfindliche, einfache und leicht herzustellende Anordnung zur fortlaufenden Messung und Aufzeichnung des Sauerstoffverbrauchs von Kleintieren mit gleichzeitiger Bewegungsregistrierung. Diss. Hdlbg. 1939.
10. Wahrheit, Theo: Über den Grundumsatz bei weißen Mäusen. Diss. Hdlbg. 1939.

11. Harbarth, Kurt: Über eine Methode zur quantitativen Aufzeichnung des Tagesverlaufs der Nahrungsaufnahme bei Mäusen und über die normale tägliche Futteraufnahme der Mäuse. Diss. Hdlbg. 1940.
12. Fink, Walter, Hambach, W. und Hartmann, Willi: Über den Gesamttagessauerstoffverbrauch ausgewachsener Ratten und Meerschweinchen bei verschiedenen Ernährungsbedingungen. Weitere Beobachtungen über die Abhängigkeit der Aktivität weißer Mäuse von dem Eiweißgehalt der Nahrung. Diss. Hdlbg. 1940.
13. Nekrassow, P. und N. Nekrassowa: Die Einwirkung von Serum auf den ermüdeten Muskel. Ferner Referat in Berichte für die gesamte Physiologie: Bd. 100, S. 39. Fiziol. Z. 21, 519 (1936). Dtsch. Zus. 530 bis 531.

Lebenslauf.

Am 26. Januar 1914 wurde ich als Sohn des im Jahre 1920 verstorbenen Werkführers Josef Emil Gokel in Dielheim bei Wiesloch geboren. Nach Besuch der Volksschule in Dielheim und der Realgymnasien in Wiesloch und Heidelberg bestand ich am 5. März 1934 die Reifeprüfung. Anschließend leistete ich mein Arbeitsdiensthalbjahr ab. Mit dem Sommersemester 1935 begann ich an der Universität Heidelberg das medizinische Studium und bestand nach fünf Semestern die ärztliche Vorprüfung. Nach dem Herbstsemester 1939, das ich an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena hörte, legte ich am 20. März 1940 an der Universität Heidelberg das medizinische Staatsexamen ab. Im April 1940 erhielt ich die Approbation als Arzt und bin seit dieser Zeit an der Medizinischen Poliklinik in Heidelberg tätig.